この添付文書をよく読んでから使用して下さい。また、必要なときに読めるように、大切に保管して下さい。

＊＊ 2014 年　3 月改訂（第 10 版）
＊ 2013 年　1 月改訂（第 09 版）

体外診断用医薬品
製造販売承認番号　22000AMX00076000

骨型酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ

オステオリンクス「TRAP-5b」

検体中のＴＲＡＣＰ－５ｂの測定

【全般的な注意】

1.本品は体外診断用医薬品であり、それ以外の目的に使用しないで下さい。
2.診断は、他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断して下さい。
3.添付文書以外の使用方法については保証いたしません。
4.使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用して下さい。

【形状・構造等（キットの構成）】＊

	構成試薬	性状	規格	成分
1	抗ヒト TRACP-5b 抗体プレート	乾燥	マイクロウエルプレート (96 ウエル：8 ウエル×12 ストリップ) ×1 枚	抗ヒト TRACP-5b マウスモノクローナル抗体 抗ヒト TRACP-5b フラグメントマウスモノクローナル抗体
2	緩衝液	液状	20mL×１本	
3	TRACP-5b 標準品 A-E※1	凍結乾燥	0.4mL×２本 ５濃度	
4	コントロール I, II※1	凍結乾燥	0.4mL×２本 ２濃度	
5	基質剤	粉末	12mL 用×２本	2-ｸﾛﾛ-4-ﾆﾄﾛﾌｪﾆﾙﾘﾝ酸
6	基質剤溶解液	液状	12mL×２本	
7	反応停止液	液状	12mL×１本	0.2mol/L NaOH
8	濃縮洗浄液（×10）	液状	100mL×１本	緩衝剤、界面活性剤

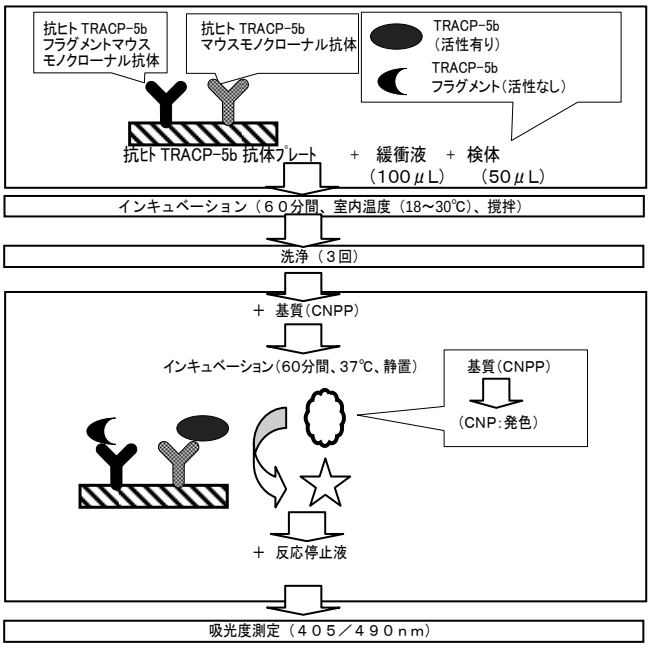
付属品：プレートシール　２枚
※1：標準品・コントロールの値はアッセイシートをご確認下さい。

【使用目的】

血清又はヘパリン血漿中の骨型酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ（酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ 5b；TRACP-5b）の測定
〔代謝性骨疾患及び骨転移(代謝性骨疾患や骨折の併発がない肺癌、乳癌、前立腺癌に限る)の診断補助並びに治療経過観察時の補助的指標〕

【測定原理】＊

本品は TRACP-5b に特異性の高い抗ヒト TRACP-5b マウスモノクローナル抗体を結合させたマイクロウエルプレートを用いた EIA 法を測定原理とします。血清およびヘパリン血漿中の TRACP-5b と抗ヒト TRACP-5b マウスモノクローナル抗体が結合し、その TRACP-5b の酵素活性を基質 2-クロロ-4-ニトロフェニルリン酸（CNPP）を用いて測定します。血清およびヘパリン血漿中の TRACP-5b フラグメントに高い親和性を持つ抗ヒト TRACP-5b フラグメントマウスモノクローナル抗体をプレートに共存させ、それらを捕捉する事で、抗ヒト TRACP-5b マウスモノクローナル抗体に TRACP-5b のみを選択的に結合させて TRACP-5b を特異的に感度よく測定する事ができます。その反応原理と反応順序を以下の図に示します。



【操作上の注意】

測定試料の性質、採取法

・検体は出来るだけ新鮮な血清又はヘパリン血漿をそのまま用いて下さい。
・検討により求められた TRACP-5b の安定性の目安は、2～8℃では 2 日、－20～－30℃では 1 ヶ月、また－80℃では 24 ヶ月です。
・検体を長期に保存する場合は、血清又はヘパリン血漿は血清／血漿分離後出来るだけ速やかに－20℃以下の冷凍で保存して下さい。また 1 ヶ月以上保存する場合は－80℃以下で保存して下さい。
・冷凍保存した検体を使用する場合、融解後はよく撹拌し成分を均一にした上で速やかに使用して下さい。測定までに時間がかかる場合は、氷浴上などで保持して下さい。（標準品やコントロールも検体と同じ温度になるように、同様の条件で取り扱って下さい。凍結融解はできるだけ避けて下さい。4 回以上凍結融解を繰り返した検体は使用しないで下さい。

妨害物質・妨害薬剤

次の物質には記載の濃度まで影響を受けません。

ビリルビン F（遊離型）	20mg/dL
ビリルビン C（抱合型）	20mg/dL
溶血ヘモグロビン	500mg/dL
乳び（ホルマジン濁度）	2500 濁度
リウマトイド因子（RF）	500 U/mL

【用法・用量（操作方法）】＊

試薬の調製方法

1.標準品及びコントロールを除くすべての試薬を室内温度（18～30℃）に戻します。
2.標準品及びコントロールの調製：各濃度の TRACP-5b 標準品及びコントロールを精製水 0.4mL で溶解します。それぞれの濃度は、アッセイシートに記載されています。溶解後、2 時間以内に「操作方法 5.抗原抗体反応」を始められない場合は、溶解した TRACP-5b 標準品及びコントロールを氷浴上などで保持して下さい。（検体も TRACP-5b 標準品及びコントロールと同じ温度になるように、同様の条件で取り扱って下さい。）
3.基質液（用時調製）：基質剤 1 バイアルに基質剤溶解液 12mL（１本）を加え、転倒混和し溶解させます。基質剤溶解液のボトルに液が残っていると基質濃度に誤差が生じるため、ピペット等で吸い取り基質剤に加えて下さい。ゴム栓に粉末が付着している場合があるので、ゴム栓をした上で転倒混和して下さい。
（使用 30 分前に調製し、使用後に残った基質液は再使用せず廃棄して下さい。）

4.プレート洗浄液：濃縮洗浄液（×10）1 ボトル 100mL を精製水 900mL で希釈します。（常温で 1 ヶ月間使用可能です。）
5.その他の試薬（緩衝液、反応停止液）はそのまま使用します。（使用後は密栓をして、2～10℃に保存して下さい。使用期限内は使用可能です。）

必要な器具・器材・試料等

1.マイクロピペット（50, 100, 400μL が分注可能なもの）及びチップ
2.メスシリンダー（プレート洗浄液調製用）
3.マイクロプレートシェーカー
4.恒温器
5.マイクロプレートリーダー

操作方法

1.プレートをアルミ袋から取り出し、必要な数のストリップを準備します。（残ったストリップは袋に戻してしっかり密封して保存して下さい。）
2.測定中にプレートの枠からストリップがはずれることがありますので使用するストリップに番号を記入して下さい。
3.各ウエルに緩衝液を各 100μL 分注します。
4.各濃度の TRACP−5b 標準液、コントロール及び検体各 50μL を各ウエルに添加します。
5.抗原抗体反応：ウエルをプレートシールでシールし、マイクロプレートシェーカーにて室内温度（18～30℃）で 60 分間、500～950rpm で振とう撹拌します。
6.洗浄操作：抗原抗体反応終了後、反応液を除去し各ウエルにプレート洗浄液を 300μL 分注し、3 回洗浄します。（洗浄液はアスピレーターで吸引します。あるいは洗浄液を捨てた後ペーパータオルなどにプレートをたたきつけて、洗浄液を完全に除きます。）
7.各ウエルに基質液を 100μL 分注します。
8.酵素反応：ウエルをプレートシールでシールし、恒温器に 37℃、60 分間静置します。（基質液がマイクロウエルプレートのウエルの壁面に付着した場合は、マイクロプレートシェーカーなどで短時間撹拌し、壁面についた基質液を落として下さい。）
9.反応停止：酵素反応終了後、各ウエルに反応停止液 50μL 添加します。
10.吸光度測定：反応停止後 30 分以内にマイクロプレートリーダーにて、波長 405nm(400～415nm で測定可能)の吸光度を測定します。（2波長のマイクロプレートリーダーを使用する場合は副波長を 490～500nm に設定します。）
11.＜TRACP−5b 活性の算出法＞
1)グラフの横軸に TRACP−5b 量（mU※2/dL）を、縦軸に吸光度をとります。
2)各 TRACP−5b 標準液濃度に対して得られた吸光度（二重測定を行った場合は、その平均値）をプロットし、標準曲線を作成します。（計算方法：Quadratic curve、代表的な標準曲線を図に示しました。）
3)この標準曲線から、検体の吸光度と対応する TRACP−5b 量を算出します。
4)希釈検体の場合は、得られた数値に希釈倍数を乗じて TRACP−5b 量を求めます。（標準液上限の吸光度を越える値を示した検体は、生理食塩水にて希釈して再度測定します。検体の希釈は測定直前に行って下さい。）

※2単位 U：1U は、反応液中、37℃で 1 分間に 1μmol の基質 2−クロロ−4−ニトロフェニルリン酸を加水分解する TRACP−5b 量を表します。

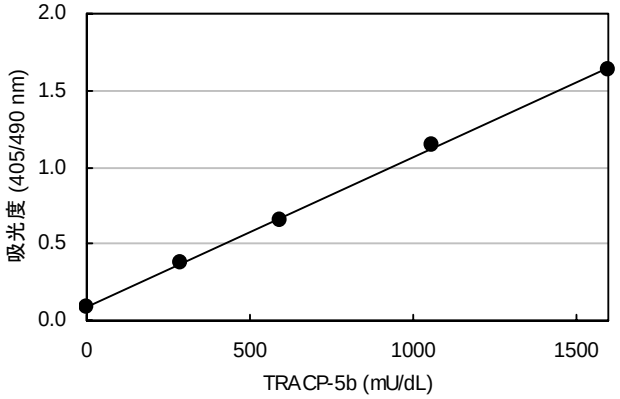


図　標準曲線例

【測定結果の判定法】

本キットを用いて、健常男性および健常女性の血清 TRACP−5b 量を測定したときの正常参考値※3 は以下の通りでした。

群	年齢	例数	正常参考値※3（mU/dL）
男性	25−82	309	170 − 590
女性（YAM※4）	30−44	189	120 − 420※5

※3 正常参考値 = Logarithmic mean±1.96SD
※4 YAM：若年者成人平均値
※5 女性に関しては、閉経前・後に関わらず、この正常参考値を診断補助に使用して下さい。

なお、正常参考値は、各施設において設定して下さい。

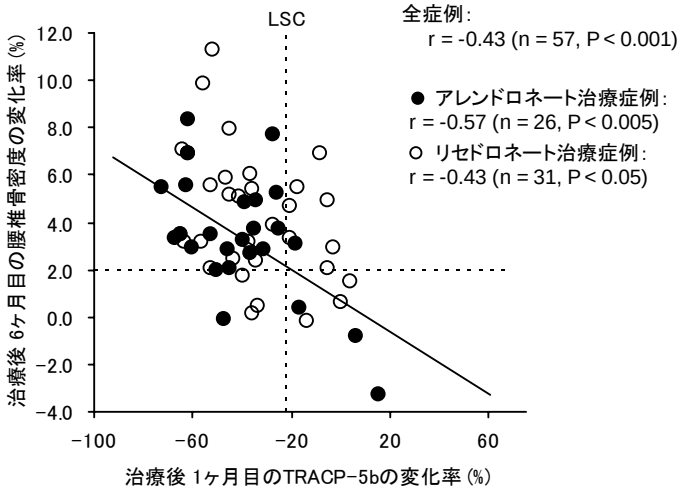
【臨床的意義】

酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ（TRACP: Tartrate-resistant acid phosphatase）は、酸性 pH でリン酸エステルを加水分解する酵素であり、生体中に複数のアイソザイムが存在します。その中で、血中の TRACP はその多くが破骨細胞由来とされ、血液検体で測定可能で生理的変動の少ない骨吸収マーカーとして知られています[1,2]。しかし、従来の比色法や抗体を使用した TRACP 測定法は、血中の赤血球、血小板、また TRACP-5a などの破骨細胞以外のアイソザイムの影響を受けるため、特異性、感度等が十分ではありませんでした[3]。
本キットは、TRACP の破骨細胞由来のアイソザイムである骨型酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ（TRACP-5b）に特異性の高い抗体を用い、その酵素活性を測定する TRACP-5b の免疫測定キットです。

臨床的には以下の疾患での臨床的意義が認められています。
1.骨粗鬆症の治療経過観察時の補助的指標[4]
2.原発性副甲状腺機能亢進症の骨減少の病態把握[5]
3.血液透析患者における骨減少の病態把握の補助的指標[6]
4.骨転移(代謝性骨疾患や骨折の併発がない肺癌、乳癌、前立腺癌に限る)の診断における補助的指標[7]

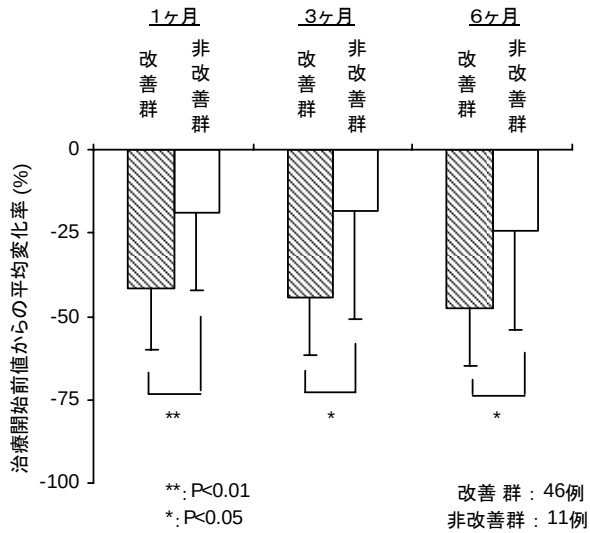
臨床性能試験データ
1.閉経後女性における血清 TRACP-5b の日間変動は 8.1%と小さく、生理的変動の指標である最小有意変化(LSC)は 22.4%と小さく(MSC では 16.2%)、治療経過観察の上で信頼性の高い補助的指標であることが示された[8]。
2.骨粗鬆症におけるビスフォスフォネート製剤による治療経過観察において、血清 TRACP-5b は治療 1 ヶ月目に有意に低下しその後安定した推移を示した。また長期間の腰椎骨密度変化(6 ヶ月)と治療開始 1 ヶ月目の血清 TRACP-5b の変化は有意な相関(r=−0.43, P<0.001, n=57)を示し(図 1)、治療 3 ヶ月目, 6 ヶ月目でも同様に有意に相関した[4]。

図 1.ビスフォスフォネート治療における骨密度変化率と TRACP-5b 変化率（1 ヶ月）の相関



・治療時の観察において骨密度改善群では非改善群よりもいずれの時期でも有意に大きな低下を示した。(図 2)

図 2.骨密度改善群 / 骨密度非改善群における TRACP-5b 値の群間比較
（治療有効群の指標として骨密度変化率 2.0% を採用した場合）



更に 2×2 表による解析で長期間での骨密度改善効果と血清 TRACP-5b の最小有意変化を指標とした観察の効果は治療早期の 1 ヶ月から観察を行った期間内のいずれの時期において高い一致性を示した（表 1）。

表 1.ビスフォスフォネート治療 1 ヶ月目の TRACP-5b 値と 6 ヶ月間の骨密度の変動一致率（骨密度変化率カットオフ値 2.0%適用の場合）

TRACP-5b 1 ヶ月　変化率（LSC 判定） vs 骨密度変化率（カットオフ値：2%）			骨密度変化率		合計
			2%以上の増加	2%未満の増加	
TRACP-5b 1 ヶ月 変化率(%)	陽性	LSC 以上の低下	38	5	43
	陰性	LSC 未満の低下	8	6	14
合計			46	11	57

陽性一致率　82.6%，陽性適中率　88.4%，正診率　77.2%
陰性一致率　54.5%，陰性適中率　42.9%

これらの結果から、血清 TRACP-5b は骨粗鬆症の治療効果や服薬コンプライアンスを把握する上での補助的指標として有用であった。

3.原発性副甲状腺機能亢進症による骨減少症において、本キットによる血清 TRACP-5b 測定値は腰椎骨密度と相関（r＝－0.54，P ＜0.005，n=29）を認め、副甲状腺摘除手術後の経過観察において 6 ヶ月後の腰椎骨密度変化と手術 1 ヶ月後，3 ヶ月後の TRACP-5b の変化率は高い相関を示した（1 ヶ月目；r=－0.51，3 ヶ月目；r=－0.60，n=17）。この結果から血清 TRACP-5b の同疾患の骨減少の病態把握時や治療経過観察時における補助的指標としての有用性が認められた[5]。

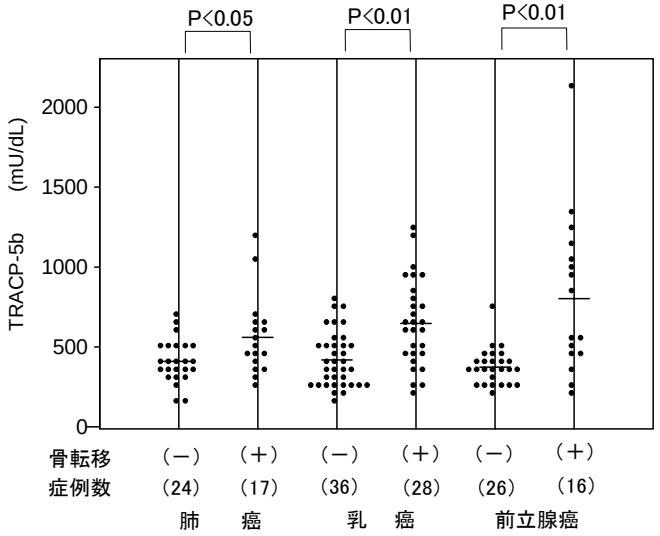
4.血液透析患者での骨減少の病態鑑別において、本キットによる血清 TRACP-5b 測定値は各性別の正常参考値上限値をカットオフ値とした場合に有病正診率 81.5%，無病正診率 75.0%を示し、血液透析患者における血清 TRACP-5b 測定が骨減少の病態把握の補助的指標として有用であることが確認された[6]。

5.乳癌、前立腺癌、肺癌において本キットによる TRACP-5b 測定は骨転移の診断(代謝性骨疾患や骨折の併発がない肺癌、乳癌、前立腺癌に限る)の補助的指標として有用性が認められた[7]。

〔骨代謝に影響を与える可能性のある疾患の併発症例(胃切除，腎疾患，副甲状腺疾患，甲状腺機能亢進症など)や外傷性骨折後の症例についての診断的価値は不明であり、肺癌、乳癌および前立腺癌以外の癌においての診断的価値も不明である。また前立腺癌においては骨転移の進展度が重度である症例(骨転移が 21 箇所以上)の症例においてのみ有用性が認められる。〕

1)骨シンチグラフィ等で骨転移の有無を分別した検討において、血清 TRACP-5b は骨転移群で高値を示し有用性が認められた。(図 3)

図 3. TRACP-5b の各癌における骨転移群、非転移群間の比較



2)各性別の正常参考値上限値をカットオフ値とした場合に有病正診率/無病正診率は乳癌で 78.6%/52.8%、前立腺癌で 50.0%/96.2%、肺癌で 52.9%/70.8%を示し、骨転移の診断 (代謝性骨疾患や骨折の併発がない肺癌、乳癌、前立腺癌に限る)における補助的指標として有用性が認められた。

【性能】

性能

1.感度
ア）管理用試料１〔0 mU/dL (0 U/L)〕を検体として操作した場合の吸光度は 0.2 以下にある。
イ）管理用試料２〔250 mU/dL (2.5 U/L)〕を検体として操作した場合の吸光度は 0.2～0.6 の範囲内にある。
ウ）管理用試料３〔1500 mU/dL (15.0 U/L)〕を検体として操作した場合の吸光度は 1.1～2.2 の範囲内にある。

2.正確性
本キットを用いて既知活性の管理用血清〔低濃度 250～450 mU/dL (2.5～4.5U/L) 高濃度 500～1000 mU/dL (5～10U/L)〕を測定するとき、既知活性の±20%以内にある。

3.同時再現性
本キットを用いて既知活性の管理用血清〔低濃度 250～450 mU/dL (2.5～4.5U/L) 高濃度 500～1000 mU/dL (5～10U/L)〕を 8 回同時に測定するとき、その変動係数 CV 値は 15%以下である。

4.測定範囲
本キットの測定範囲は、10～1500 mU/dL である。

較正用基準物質

自社 TRACP-5b 基準品

【使用上又は取扱い上の注意】

取扱い上（危険防止）の注意

1.患者ヒト血液検体は HBV、HCV、HIV 等を含む場合があり、本質的には危険なので取扱い時には、手袋等の保護具を着用して感染防止に十分に注意して下さい。検体および、検体に接触した器具、試薬、試薬容器等は感染の危険があるものとして、オートクレーブで滅菌処理(１２１℃で２０分以上)するか、または、１%次亜塩素酸などの消毒液に浸して処理して下さい。
2.反応停止液は０.２mol/L 水酸化ナトリウムであるため、使用に際しては取り扱いに注意して下さい。
3.試薬が誤って目や口に入った場合には、水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当てを受けて下さい。

使用上の注意

1.試薬の分注の際、試薬間の相互汚染がないように注意して下さい。
2.ロットの異なる試薬と組み合わせて使用しないで下さい。また、同一ロットでも保存した調製品と合わせて使用することは避けて下さい。
3.基質液を２瓶以上同時に使用する際はひとつに混和してから使用して下さい。
4.抗体プレートのウエル内をチップの先端などで擦らないように注意して下さい。
5.洗浄操作はなるべく短時間で行い、プレートを乾かしすぎないように注意して下さい。
6.測定操作は標準液および患者ヒト血液検体について同時に行い、試薬類の添加、洗浄操作は一定間隔、同一の順序にするなど常に一定条件で行って下さい。
7.標準曲線は検体測定毎に同時に作成して下さい。
8.二重測定を行った場合は、その平均値を測定値として採用して下さい。
9.測定に際して使用する器具類（マイクロチップ、試料プレート、検体希釈用マイクロチューブ）はすべて新品のものを使用し、再利用品の使用は避けて下さい。

廃棄上の注意

1.検体は、HBV、HCV、HIV 等の感染性のものが存在する場合がありますので、廃液、検体および検体に接触した器具、試薬、試薬容器などは、次亜塩素酸ナトリウム(有効塩素１０００ｐｐｍ、１時間以上浸漬)又は、グルタールアルデヒド（２%、１時間以上浸漬）による消毒処理あるいは、オートクレーブによる滅菌処理（１２１℃で２０分以上）を行って下さい。
2.試薬及び器具等を廃棄する場合には、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規定に従って処理して下さい。

【貯蔵方法、有効期間】

貯蔵方法

２～１０℃で保存して下さい。

有効期間

製造後１８ヶ月
最終使用期限は外箱に記載してあります。

【包装単位】

１キット　９６回測定用

【主要文献】

1.三浦俊英，五十嵐吉彦，大橋建也　他：新規破骨細胞由来酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ(TRACP 5b)活性免疫測定キットの開発とその基礎検討．Osteoporosis Japan 12(2): 264-267 (2004)
2.西沢良記，稲葉雅章，石井光一　他：新規に開発された血中骨型特異的酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ（TRACP-5b）測定の検討．医学と薬学 54(5): 709-717, (2005)
3.中塚喜義，西沢良記：酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ；骨代謝マーカー（福永仁夫 他編著）pp73-83，メディカルレビュー社 (1995)
4.三木隆己，石井光一，中弘志 他：新規血中酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ骨型アイソザイム（TRACP-5b）測定キット オステオリンクス「TRAP-5b」の臨床的検討　-骨粗鬆症に対するビスフォスフォネート治療における検討-．医学と薬学 55 (3):443- 458 (2006)
5.山下弘幸，猪俣啓子，野口志郎，西沢良記：新規血中酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ骨型アイソザイム（TRACP-5b）測定キット オステオリンクス「TRAP-5b」の臨床的検討-原発性副甲状腺機能亢進症における検討-．医学と薬学 55 (3):459-466 (2006)
6.稲葉雅章，奥野仙二，田原英樹 他：新規に開発された血中骨型特異的酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ（TRACP-5b）測定キット オステオリンクス「TRAP-5b」の血液透析患者での有用性に関する検討．医学と薬学 55 (4):593-603(2006)
7.小泉満，高橋俊二，福井巌　他：血中酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ骨型アイソザイム（TRACP-5b）測定キット オステオリンクス「TRAP-5b」の臨床的検討　-転移性骨腫瘍における検討-．医学と薬学 55 (4):605-614 (2006)
8.望月善子，西沢良記，大石曜　他：新規に開発された血中酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ骨型アイソザイム（TRACP-5b）測定キット オステオリンクス「TRAP-5b」による日内および日間変動と最小有意変化の検討．医学と薬学 54(6): 895-902 (2005)

文献請求先

ＤＳファーマバイオメディカル株式会社
大阪府吹田市江の木町３３番９４号
TEL　０６－６３３７－５９４１
FAX　０６－６３３７－６０２０

【問い合わせ先】

ＤＳファーマバイオメディカル株式会社

学術開発第１グループ

大阪：TEL　０６－６３３７－５９４１
　　FAX　０６－６３３７－６０２０
URL：http://www.dspbio.co.jp

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】**

製造販売元：ニットーボーメディカル株式会社

福島県郡山市富久山町福原字塩島１番地

発売元：DSファーマバイオメディカル株式会社

大阪府吹田市江坂町2丁目1番43号